

THESIS

MUNICH

1966

**Untersuchungen
über die im Cellophankulturfiltrat
von Staphylococcus aureus
vorkommenden Ekzematogene**

DETLEF SACHSE

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
SALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität München

Vorstand: Professor Dr. Schirren

Untersuchungen über die im Cellophankulturfiltrat
von *Staphylococcus aureus* vorkommenden Ekzematogene

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Detlef S a c h s e

aus

Schweidnitz

1966

München

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Professor Dr. Röckl
Mitberichterstatter:	Professor Dr. Schirren
Dekan:	Professor Dr. Kiese
Tag der mündl. Prüfung:	4. Oktober 1966

Meiner Mutter gewidmet

Inhaltsverzeichnis

A.	<u>Einleitung</u>	1
B.	<u>Literaturübersicht</u>	
I.	Gemeinsamkeiten im chemischen Aufbau ekzematogen wirksamer Stoffe	3
II.	Mikrobielle Ekzematogene	11
III.	Übersicht über die bisher aus Staphylo- kokken isolierten Stoffe	15
C.	<u>Eigene Untersuchungen</u>	
I.	Material	21
II.	Methodik	22
III.	Ergebnisse	
1.	Fraktionierung des CKF mit Sephadex	27
a.	Trennung mit Sephadex G-25	28
b.	Trennung mit Sephadex G-50	30
c.	Trennung mit Sephadex G-75	32
2.	Untersuchung des Ultrafiltrats des CKF	34
3.	Gelfiltration des ultrafiltrablen CKF-Anteils	36
4.	Weitere Reinigung des aktiven Prinzips	37
D.	<u>Diskussion</u>	40
E.	<u>Zusammenfassung</u>	46
F.	<u>Literaturverzeichnis</u>	48

Einleitung

Untersuchungen über die chemische Natur der ekzemauslösenden Stoffe standen von jeher im Mittelpunkt der experimentellen Ekzemforschung. Im ersten Abschnitt der vorliegenden Arbeit werden die bisher am gründlichsten untersuchten experimentellen Ekzematogene unter dem Gesichtspunkt ihrer Gemeinsamkeiten dargestellt. Es geht darum, die Möglichkeit wirksamer Bestandteile der Moleküle aufzuzeigen. Wenn dies auch für alle ekzematogen wirksamen Stoffe zugleich unwahrscheinlich ist, so finden sich doch verschiedene Ekzematogene, die im auffälligen Besitz gemeinsamer Gruppen sind, andere, deren elektrochemische Eigenschaften für die ekzematogene Aktivität verantwortlich zu sein scheinen. Darüber hinaus kommt hauptsächlich ROBERT MAYER das Verdienst zu, eine Theorie gemeinsamer chemischer Umwandlungsprodukte, die sich nach Applikation der Ekzematogene auf der Haut bilden, geschaffen zu haben.

Naturgemäß können solche Untersuchungen nur an verhältnismäßig einfachen und chemisch gut definierten Stoffen durchgeführt werden. Schon die Terpene lassen kaum mehr bindende Erklärungen zu.

Noch komplizierter sind die Verhältnisse bei den mikrobiellen Ekzematogenen. Zwar wurde die Rolle von *Staphylococcus aureus* durch KOROSSY, MEYER-ROHN, MIESCHER, RAJKA, ROBERT, RÖCKL, sowie STORCK eindeutig bestätigt, jedoch liegen in Bezug auf die Art der ekzematogen wirksamen Bestandteile keine einheitlichen Ergebnisse vor, wie an den bisher bekann-

ten Arbeiten dargestellt wird.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte daher der Versuch unternommen werden, erneut das Prinzip der ekzematogenen Stoffwechselprodukte von Staphylokokken zu isolieren und so möglicherweise eine Klärung der sich widersprechenden Ergebnisse herbeizuführen.

Gemeinsamkeiten im chemischen Aufbau
der ekzematogen wirksamen Stoffe.

Seit Beginn des Jahrhunderts wurde versucht, experimentell ekzematöse Sensibilisierungen hervorzurufen. BLOCH (13) betonte 1911 bei seinen Arbeiten über die Methin- und Methylempfindlichkeit bei der Jodoform-Idiosyncrasie die Bedeutung des Läppchentests für die Erkennung entscheidender chemischer Gruppen mittels verwandter, chemisch einfacher Stoffe. Er war es auch, der 1928 bei seinen Primelversuchen feststellte, daß die Sensibilisierungen abhängig sind:

1. von der Allergenaktivität der benutzten Substanz,
2. der individuellen Disposition des Versuchsobjekts und
3. von einem unbekannten Hautfaktor.

SCHNITZER (111) beobachtete 1941 beim Dinitrochlorbenzol, daß eine gewisse Schwellenkonzentration zur Sensibilisierung von Bedeutung ist.

In verschiedenen Arbeiten über das experimentelle Ekzem wurde der Versuch unternommen, die ekzematogene Aktivität aus der chemischen Konstitution des getesteten Stoffes, oder, noch weiter gehend, aus dem Aufbau der Atome zu erklären. STORCK und SCHWARZ (125) fiel 1960 auf, daß die bisher experimentell bekannten sensibilisierenden Metalle in den Nebengruppen des periodischen Systems liegen. Infolge der mangelnden Stabilität ihrer unausgefüllten Elektronenschalen sind sie paramagnetisch.

Hierher gehören:

Eisen, Kobalt, Nickel, Chrom, Quecksilber.

Beim Eisen stellten GRAUL und KALKOFF (39) 1948 fest, daß sich die epicutane Sensibilisierung nicht auf ein Eisensalz-molekül bezieht, sondern vielmehr auf das Eisenion selber und zwar dessen zweiwertige Form.

Für die anderen Metalle liegen die Verhältnisse nicht so einfach. Sie beschränken sich zumeist auf die Zusammenstellung der experimentellen und klinischen Beobachtungen. So stellte HAXTHAUSEN (46) 1936 fest, daß mit Kobaltsulfat sensibilisierte Patienten sich auch als auf Nickel empfindlich erwiesen, nicht jedoch auf Quecksilber, Eisen und Chrom. Er schloß daraus auf eine, hinsichtlich der Sensibilisierung und Ekzemauslösung bestehende Verwandtschaft dieser zwei Metalle, bzw. eine relative Unspezifität deren "Antistoffe". Gemeinsam ist bei Kobalt und Nickel ferner, daß sich eine Sensibilisierung beim Menschen erst nach vorhergehender Alkalischädigung der Haut durchführen läßt (BURCKHARD (16) 1935 beim Nickelsulfat).

Bei ihren Untersuchungen über verschiedene Salze dieser Metalle stellten EVERALL und TRUTER (31) 1957, im Gegensatz zu ROSTENBERG und PERKINS (105) 1951, fest, daß sich mit komplexen Nickel- und Kobaltsalzen bei sensibilisierten Patienten stärkere Reaktionen erzeugen ließen, als mit einfachen Salzen. Dies ist insofern von Bedeutung, als die komplexen Salze eine geringe Affinität zu Proteinen zeigen. EVERALL und TRUTER (31) stellten daher die Haptentheorie in Frage. Auch bei ihren Untersuchungen über das Chrom stellten sie fest, daß dieses Metall nicht in Proteinverbindungen

wirksam ist.

NILZÉN und WIKSTRÖM (88) konnten 1955 Meerschweinchen mit Kaliumbichromat nur sensibilisieren, wenn sie diesen Stoff mit Natriumlaurylsulfat mischten.

Mit Quecksilber in Form von Sublimat gelang HAXTHAUSEN (45) 1934 eine Sensibilisierung erst nach in-vitro-Ver-mischung mit Pferdeserum, während STORCK (123) 1949 Meer-schweinchen auch ohne Adjuvantien sensibilisieren konnte.

Interessante Beobachtungen ließen sich bei den Unter-suchungen der Sensibilisierung durch Arsenverbindungen machen. Soweit bekannt, gibt es keine sensibilisierenden anorganischen Arsenverbindungen. Positive Resultate wurden erst mit den organischen Verbindungen des Arsens, besonders mit Arsenobenzolen erzielt. Damit wurde die Frage aufgewor-fen, in wiefern der aromatische Charakter der Verbindung von Bedeutung ist. FREI (33) beantwortete sie 1942 dahin, daß die Hautsensibilisierung gegen die gesamte aromatische Me-tallverbindung gerichtet ist. Schon 1931 fanden SULZBERGER und R. MAYER (127), daß die Sensibilisierung auf Neoarsphen-amin sich gegen den gesamten Arsenobenzolkomplex richtet.

Mit dem Benzol, bzw. dessen Abkömmlingen beschäftigte R. MAYER (75) sich seit 1928, seit seinen Untersuchungen über Azofarben und Paraphenylendiamin. Aus seinen Beobacht-ungen zog er später den Schluß, daß ein großer Teil der aro-matischen Substanzen durch Chinonbildung wirksam werde. Es seien das Pellidol, das Ursol, Entwicklerstoffe und Haar-färber angeführt. So erklärten BAER, LEIDER und MAYER (6)

1948 auch die Gruppenspezifität zwischen Paraphenyldiamin und den Azostoffen: Azofarbstoffe werden in vivo reduziert. Dadurch entstehen Aminophenole und Paraphenylendiamine, deren Oxydationsprodukte Chinonstruktur haben. Entsprechend erklärte PERUTZ (94) die Metoldermatitis der Photographen durch die Sensibilisierung mit dem aus Hydrochinon mittels des Fermentes Dehydrase gebildeten Chinon.

Auch NITTI und BOVET (89) stellten 1936 bei ihren Arbeiten über das Sulfamidochrysoidin fest, daß bestimmte Azoverbindungen des Sulfanilamids erst nach in-vivo-Reduktion zu Verbindungen mit Aminogruppen (und anderen Gruppen) sensibilisierend wirken.

Mit der Theorie von MAYER konnte auch die Aktivität einiger Oleoresine erklärt werden.

1937 waren NITTI, BOVET und DEPIERRE (90) auf ihrer Suche nach Gemeinsamkeiten gruppenspezifischer aromatischer Sensibilisatoren zu dem Schluß gekommen, daß eine freie Aminogruppe am aromatischen Ring, sowie ein Substituent in Para-stellung von Bedeutung seien. SCHULZ (116) zeigte 1962 an zwölf Kranken, die auf Paraphenyldiamin positiv reagierten, daß nur die Hälfte der Patienten auch auf Anilin reagierte, keiner jedoch auf Dimethylanilin, dessen NH_2 -Gruppen blockiert sind. Ebenso vermindert die Substitution des NH_2 am Marfanil durch Acetyl- oder Benzylreste die Aktivität (SCHREUS (112)). SIDI, HINCKY und M. HINCKY (119) weisen darauf hin, daß, in der Annahme des immunologischen Mechanismus der allergischen Reaktion, die Bindung der Allergene geringen Molekulargewichtes an Proteine für die Auslösung der

Antigen-antikörper-Reaktion von Wichtigkeit sei. Dies sei mit einer stark reagierenden Gruppe (der NH_2 -Gruppe) gegeben. Auch dem gemeinsamen Cyclohexanring von Neomycin und Streptomycin als Träger zweier Aminogruppen wird die eigentliche Aktivität zugesprochen. Ubrigens vermutete SCHNITZER (110) schon 1938 bei der Untersuchung von organischen Arsenverbindungen, daß die Stellung freier Aminogruppen in Orthostellung zur Phenolgruppe für die Sensibilisierungskapazität verantwortlich sei.

Des weiteren wird die Bedeutung des Abstandes der NH_2 -Gruppe vom aromatischen Ring betont. Je größer die Entfernung, desto schwächer wird die sensibilisierende Wirkung (Marfanil, N-Methylmarfanil, Pyrrolidin-Marfanil). Daß Stoffe wie Nitrobenzol und Anilin, also aromatische Ringe mit NO_2 - bzw. NH_2 -Gruppen eine gekreuzte Sensibilisierung zeigen (TZANCK (130), SIDI (118), RAJKA (98), SCHULZ (116), läßt sich nach Ansicht der meisten Forscher durch die Reduktion der Nitro- zur Aminogruppe erklären.

1935 gelang WEDROFF und DOLGOFF (135) die Sensibilisierung mit 2,4-Dinitrochlorbenzol. LANDSTEINER und CHASE (63) untersuchten die Gruppenspezifität verschiedener chlorierter und nitrierter Benzole. Nach LANDSTEINER reagieren von den mit Cl und NO_2 substituierten Benzolen die chemisch labilsten am besten. Auch SULZBERGER und BAER (126) zogen den Schluß, daß die Kontaktüberempfindlichkeit in Beziehung zur Labilität der Chlor- und Nitrogruppe steht. LANDSTEINER und JAKOBS (65, 66) stellten ferner fest, daß die mit relativ schwächeren Allergenen sensibilisierten Tiere stets auch mit

stärker aktiven Homologen reagieren, umgekehrt jedoch nicht. Hatten LANDSTEINER und JAKOBS festgestellt, daß Cl, Br, F und J austauschbar sind, so zeigten EISEN, ORRIS und BELMANN (28) 1952 neben der Bestätigung dieser Beobachtung, daß der Ersatz des Chlors durch OH, H, CH₃ und NH₂ einen Wirkungsverlust mit sich bringt.

Interessant ist, daß der sensibilisierende Charakter, wenigstens zum Teil, erhalten bleibt, wenn die Aminogruppe am Ring durch eine OH-Gruppe ersetzt wird (vergl. die Theorie von R.MAYER).

Über den Para-Substituenten am aromatischen Ring läßt sich sagen, daß z.B. bei Ersetzung der SO₂NH₂-Gruppe des Marfanils durch eine Estergruppe (COOR) die Aktivität erhalten bleibt (SIDI (118)), daß jedoch deren Substitution durch eine freie Säuregruppe (COOH) einen erheblichen Aktivitätsverlust mit sich bringt.

Aus diesen und ähnlichen Beobachtungen kann der Schluß gezogen werden, daß der elektrische Zustand eines Moleküls, die Änderung seiner Reaktivität, Bedeutung für seine sensibilisierende Eigenschaft hat.

Ferner hat die Stellung des Substituenten einen entscheidenden Einfluß. MAYER (78) und SCHULZ (116) konnten zeigen, daß Patienten, die auf Paraphenyldiamin sensibilisiert waren, auch auf Ortho-, nicht aber auf Metaphenyldiamin reagierten. MAYER erklärte diese Ergebnisse durch seine oben angeführte Theorie der Bildung von Chinonderivaten.

Neben der Stellung des Substituenten beeinflußt auch die Anwesenheit weiterer Substituenten am aromatischen Ring die

ekzematogene Aktivität. BAER (5) und auch SIDI (118) konnten zeigen, daß auf Paraphenylendiamin sensibilisierte Patienten auch auf Paratoluyldiamin, das sich durch eine CH_3 -Gruppe auszeichnet, reagieren. Wird die CH_3 -Gruppe durch das stark elektronegative NO_2 ersetzt, so sinkt die Aktivität stark.

Die ekzematogene Aktivität des aus drei aromatischen Ringen zusammengesetzten Phenothiazins und seinen Abkömmlingen sehen SIDI und Mitarbeiter (119) unter Zuhilfenahme der Theorie von MAYER (78) dadurch erklärt, daß sich in vivo Phenothiazone bilden. Ferner kann man durch Öffnung des mittleren Ringes Produkte erhalten, die dem Paraphenylendiamin ähneln.

Im Bereich der Terpene werden die chemischen Konstitutionen schließlich so unübersichtlich, daß eine bindende Erklärung nicht möglich ist.

1938 gelang BURCKHARD (17) die Sensibilisierung von Meerschweinchen auf d- δ -Pinen. Die dabei notwendige Alkalischädigung der Haut erklärte er als "Schrittmacher - Phänomen" und schloß, daß die Haut gegen ungesättigte Terpene empfindlich sei.

Während GRAUL (38) in der Gruppe der Terpene das δ -Pinen für das wirksame Prinzip hält, kommen PIRILA und Mitarbeiter (96) zu dem Schluß, daß dem Δ^3 -Caren und dessen Hydroperoxyd-Umwandlungsprodukten die sensibilisierende Eigenschaft zukommt. SIDI (118) stellt als gemeinsames Prinzip einen aromatischen Ring mit phenolischer OH-Gruppe und in Parastellung eine Gruppe mit Doppelbindung heraus. Dabei kommt nach SIDI der OH-Gruppe große Bedeutung zu.

Auch bei aliphatischen azyklischen Verbindungen wurde die Bedeutung bestimmter Gruppen wiederholt unterstrichen. Wie schon erwähnt, schrieb BLOCH beim Jodoform die Unverträglichkeit dem Methylrest zu. Weiter seien angeführt: Dimethylsulfat, Paratoluolsulfonsäuremethylester, Diazomethan und andere Methylierungsmittel.

Bei Thioglycerin und anderen Merkaptanen stellte VOSS (134) 1958 fest, daß der SH-Gruppe die eigentliche Bedeutung zukommt.

Mikrobielle Ekzematogene

Aus dem bisher Dargestellten geht hervor, daß es sich bei den Ekzematogenen um chemisch einfache Stoffe handelt, bzw. sich ihre Wirksamkeit aus chemisch einfachen Gruppen erklären läßt. Andere Verhältnisse werden bei den nun zu behandelnden mikrobiellen Ekzematogenen gefunden.

Nachdem UNNA (131) im Jahre 1899 die Erzeugung eines Ekzems erstmals Bakterien, nämlich den grampositiven, Gelatine nicht verflüssigenden "Morokokken" zugeschrieben hatte, dauerte es noch fast 50 Jahre, bis die ersten Versuche unternommen wurden, aus Mikroben einen eigentlichen ekzematogenen Stoff zu isolieren. Dies mag von der Tatsache herühren, daß sich hier der Untersucher einem komplexen, unübersichtlichen Material gegenüber sah, ganz im Gegensatz zu den einfachen chemischen Stoffen. Der erste Untersucher war 1937 ROBERT (101).

Er bestätigte die Vermutung, daß *Staphylococcus aureus* (St. aur.) für die Genese des mikrobiellen Ekzems Bedeutung hat. Zu dem selben Ergebnis kamen KOROSSY (58), MEYER-ROHN (79), MIESCHER(81), RAJKA (98), RÖCKL (102), STORCK (122).

Bezüglich der Besiedlung der Haut Ekzemkranker mit Mikroben stellten MARCHIONINI (73), MEYER-ROHN, RÖCKL, STORCK, RAJKA u.a. fest, daß auf erkrankter Haut St. aur. in größerem Maße gefunden wird, als auf nicht erkrankter Haut. Eine qualitative Differenz der Flora besteht jedoch nicht (SCHRÖPL, MÜLLER, RÖCKL (113)). 1964 stellte MÜLLER (85) fest, daß auf der Haut Gesunder St. aur. nicht, oder nur

schwer züchtbar ist.

Zu seinen Untersuchungen über die Natur des ekzemauslösenden Stoffes in Staphylokokken verwandte ROBERT (101) 1937 einen stark hämolysierenden Stamm (72 von Nelis), dessen Bouillonkulturfiltrate (BKF) er herstellte, zehnfach eindickte und mit 0,5 % Phenol versetzte. Nach der Läppchenmethode ließen sich mit diesem Konzentrat auf der unveränderten Haut positive Reaktionen herbeiführen. Nach der Veränderung des Bouillonkulturfiltrats (BKF) durch Hitze, bzw. Formol fand ROBERT, daß der die Reaktion auslösende Stoff sich bald thermolabil, bald formollabil zeigt und deshalb wohl keinen einheitlichen Körper darstellt. Ausfällungsversuche mit Ammonsulfat (Eiweiße) und Alkohol (Eiweiße, Polysaccharide, Glucolipide) führten ihn zu der Vermutung, daß die ekzemauslösenden Stoffe der Kohlenhydratfraktion angehören. Mit der Alkoholfällung wurde auch noch die dermonekrotische und hämolytische Aktivität erfaßt.

Zu anderen Ergebnissen kamen 1948 MIESCHER, LINCKE und STORCK (82). Sie gingen von dem BKF schwach hämolysierender Stämme, besonders Stamm 55 aus. Die fraktionierte Ausfällung der Eiweißkörper mittels Ammonsulfat brachte sie zu dem Ergebnis, daß sich der ekzematogen aktive Stoff in der Albuminfraktion finden läßt. Die von den Proteinen befreite Nährlösung wurde durch Dialyse in hoch- und niedermolekulare Stoffe getrennt. Bei der Fällung des Dialysierrückstandes mit Alkohol bzw. Azeton wurde nur einmal ein isolierbarer Niederschlag beobachtet. Es ließen sich mit dieser Fraktion keine, oder nur geringe Reaktionen erzielen.

Ferner büßte der ekzematogene Stoff seine Aktivität durch Salzsäurehydrolyse oder Pepsinverdauung ein, jedoch nicht durch Formalinzusatz und nur unvollständig durch kurzes Kochen in 50 % Alkohol oder einstündiges Erhitzen im Wasserbad.

Des weiteren schlüsselten diese Autoren die mit Alkohol ausgewaschenen Bakterien auf. Durch Zusatz von Trichloressigsäure zu den in Wasser suspendierten Bakterienleibern und anschließende Dialyse wurden diese in Eiweißkörper, restlich hochmolekulare und niedermolekulare Verbindungen aufgetrennt. Aufgrund dieser Versuche kamen MIESCHER, LINCKE und STORCK zu der Vermutung, daß für die Genese des mikrobiellen Ekzems ein Eiweißkörper aus der Gruppe der Albumine in Frage kommt. Die Testsubstanzen wurden jeweils zusammen mit pulverisierter Glaswolle in die Haut eingerieben.

Aus der Arbeit von MEYER-ROHN und SCHRÖDER (80) sollen folgende Ergebnisse bezüglich der Aufarbeitung von BKF bzw. NaCl-Aufschwemmungen erwähnt werden. 1. Der positive Ausfall einer Ekzemreaktion ist nicht an das Vorhandensein des Bakterienleibes gebunden, 2. Inaktivierung bei 56°C zerstört das wirksame Prinzip nicht, 3. Aufkochen zerstört das wirksame Prinzip nur teilweise.

MEYER-ROHN und ROHDE (79) ließen sich auf ihrer Suche nach dem Wirkstoff Bakterienleiber von WESTPHAL nach dessen Methode der Phenolfractionierung aufschlüsseln. Dabei werden drei Phasen erhalten: eine wässrige, die Polysaccharide und Nucleinsäure enthält, eine phenolische mit Proteinen und eine in Wasser und Phenol unlösliche, in der sich wahrschein-

lich Nucleoproteid- und Proteinmaterial findet. Nur mit der wasserlöslichen Phase ließen sich eindeutige Reaktionen erzielen, bei Ekzematikern häufiger als bei Nichtekzematikern. Die wenigen positiven Fälle auf die anderen Phasen lassen immerhin die Diskussion mehrerer aktiver Stoffe zu.

Die bisher genannten Autoren benutzten zu ihren Versuchen Bouillonkulturfiltrate. Die durch die Nährbodenbestandteile bedingten Verunreinigungen lassen sich nun zu einem großen Teil durch die bei SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (113) beschriebenen Methode der Züchtung von Keimen auf Cellophanfolien auf der Oberfläche fester Nährböden (Methode von BIRCH-HIRSCHFELD) vermeiden.

Mit Cellophankulturfiltraten (CKF) konnten diese Autoren epidermale Sensibilisierungen an Meerschweinchen erzeugen. In einer Reihe von Untersuchungen konnten sie die ekzemato-genen Eigenschaften des CKF hinreichend sichern.

Es liegen also bisher sich widersprechende, oder eventuell ergänzende Ergebnisse über die Natur des ekzemauslösenden Stoffes vor, die einer Klärung bedürfen. Als vielversprechende Methode zur Isolierung des aktiven Stoffes aus Cellophankulturfiltraten von St.aur. bot sich die Gel-filtration an, die FLODIN (32) in seiner Monographie "Dextran Gels and their Application in Gelfiltration " 1962 ausführlich beschreibt.

Übersicht über die bisher aus Staphylokokken isolierten Stoffe

Voraussetzung für die Untersuchung der ekzematogenen Staphylokokkensubstanzen ist die Kenntnis der bisher bekannten Bausteine, Toxine und Stoffwechselprodukte dieser Keime, die im folgenden in einer gedrängten Übersicht dargeboten werden sollen.

Enterotoxin: Dieser Stoff ist nicht dialysierbar (JORDAN und BURROWS (54), BERGDOLL, SUGIYAMA und DACK (9), hat ein Molekulargewicht von 23000 (HIBNICK und BERGDOLL (47)), ist fällbar mit Ammoniumsulfat, Äthanol, Methanol und Phosphorsäure und durch Gelfiltration zu reinigen. Das Enterotoxin enthält keine Kohlenhydrate und Lipide und besteht aus mindestens vier verschiedenen Fraktionen. Es ist antigen wirksam (neutralisierende und präcipitierende Antikörper).

Hämolysine: Bekannt ist ein α , β , γ , δ und ϵ -Hämolysin. α und β sind serologisch voneinander differenzierbar (GLENNY und STEVENS (37)). δ und ϵ -Hämolysin scheinen identisch zu sein.

Das α -Hämolysin ist ausfällbar mit Ammoniumsulfat (Halb- bis Vollsättigung) bei verschiedenen pH-Werten. Es läßt sich mit Äthanolfraktionierung weiter reinigen. Es ist relativ thermostabil; ein bei 60°C wirksamer Inhibitor scheint vorzukommen, der bei über 80°C inaktiviert wird (Lit. bei ELEK (29)).

β -Hämolysin ist durch Äthanol, Methanol und Aceton nicht fällbar (KODAMA und KOJIMA (57)).

δ -Hämolysin ist in Äthanol löslich, in Aceton und Äther unlöslich (MARKS und VAUGHAN (74), GRÜN (40), ELEK (29)). Es ist relativ thermostabil.

Dermonektrotoxin und Letalfaktor: Die Frage nach der Identität zwischen einander und mit δ -Hämolysin (GRÜN (40)) konnten noch nicht eindeutig beantwortet werden.

Plasmakoagulase: Serologisch lassen sich drei Koagulasen differenzieren (RAMMELKAMP, HERZEBRICKS und DINGLE (100)). Die Aktivität scheint an ein Protein gebunden zu sein. Sie findet sich im Niederschlag nach Äthanol- oder Ammoniumsulfatfällung. Die Anreicherung gelingt auch mit Cadmiumsulfatfällung (DUTHIE und LORENZ (27)). Elektrophoretisch ist es einheitlich. Ihr Molekulargewicht beträgt 44000 (DUTHIE und HAUGHTON (26)). Sie ist thermostabil.

Verklumpungsfaktor: Wie weit dieser chemisch noch nicht erfaßte Stoff mit der Koagulase identisch ist, ist noch nicht geklärt (JACHERTS (52), ELEK (29), ALAMI und KELLEY (1)).

Fibrolysin: Es kann durch Fällung mit Äthanol, Aceton und Trichloressigsäure angereichert werden. Kulturfiltrate sind wenig wirksam (AOI (3), CHRISTIE, GRAYDON und WOODS (20), ROUNTREE (106)). Es scheint thermostabil zu sein.

Weitere Proteasen: Es lassen sich drei Proteasen nachweisen (KOURILSKY, RICHOU und SCHLAEPFER (59), ELEK und LEVY (38). BIRCH-HIRSCHFELD (12) hatte 1940 eine nicht dialysable, wie Protein fällbare und thermolabile Protease gefunden.

Hyaluronidase: Sie ist antigen wirksam und scheint einheitlicher Natur zu sein (ROGERS (104), DAVISON, DER OW und WALKER (21), SCHWABACHER, CUNCLIFFE, WILLIAMS und HARPER (117)). Sie ist wasserlöslich und verhält sich nach Ausfällung mit Ammoniumsulfat wie Albumin. Das Molekulargewicht beträgt 11000 - 14000 (MALMGREN (72)). Sie ist ein thermolabiler Eiweißkörper aus mindestens zwölf trennbaren Aminosäuren.

Lipase: Sie ist thermostabil, antigen wirksam; ihr pH-Optimum liegt bei 5,5 (GRÜN (40)).

Penicillinase: Wahrscheinlich kommen mehrere Penicillinasen vor (SAZ, LOWERY und JACKSON (109)). Sie sind antigen wirksam (HOUSEWRIGTH und HENRY (51)). Der Stoff ist nicht dialysabel, sehr thermolabil, durch proteolytische Fermente zerstörbar und nur bei pH 7 stabil (Lit. bei ELEK (29)).

Sonstige Enzyme: Des weiteren kommen vor: ein mucinspaltendes Ferment (BERGAMINI (8), ein harnstoffspaltendes Ferment (Lit. bei GRÜN (40)), ein Mannit vergärendes und ein Glucosamin vergärendes Ferment, eine Phosphatase (SAN CLE-

MENTE und ZOLLI (108)), eine Desoxyribonuclease (OSSOWIECKI und PAKULA (92)), eine Nuclease, die RNS und DNS spaltet (ALEXANDER, HEPPEL und HURWITZ (2)), eine Tributyrinase (DRUMMOND und TRAGER (25)), ferner ein reduzierendes Ferment (GRÜN (41)).

Für Leukozyten toxische Faktoren: 1. NEISSER-WECHSELBERG-Leukozidin (eventuell identisch mit $\mathcal{L}$ -Hämolysin), 2. das PANTON-VALENTINE-Leukozidin und 3. das Leukolysin. Das Leukozidin besteht nach WOODIN (136) aus zwei verschiedenen Proteinen.

Pigment: Es ist mit Äther und Chloroform ausschüttelbar und besteht nach CHARGAFF (18, 19) aus Zeaxanthin, nach SABIN und STAHL (107) aus Δ -Carotin.

Antibiotisch wirksamer Faktor: Er wird als thermolabil (DISCOUET (23)), nicht dialysierbar und als mit Trichlor-essigsäure fällbar (VÁCZI und MIHÁLYFI (132) beschrieben. In neutralem und saurem Milieu ist er ziemlich stabil, in alkalischer Lösung wird er rasch zerstört, ebenso durch proteolytische Fermente. GARDNER (36) schließt daher auf einen hochmolekularen Eiweißkörper, während LOEB, MOYER und MURRAY (68) ein niedermolekulares Peptid finden.

Lipoide: In St. sind Phosphorlipide und Glucolipide (MITCHELL und MOYLE (83), ferner Lipoproteine (JUNGERMANN (56)), Phosphatide und Glucolipide (POLONOVSKI, WALD und

PAYSANTDIAMANT (97) beschrieben worden.

Proteine: Sie sind häufig nachgewiesen worden, zuerst von DAY (22). Weitere Untersuchungen erfolgten durch LANCEFIELD (61), JULIANELLE und WIEGHARDT (55), KRUEGER und NICOLS (60), HOFFSTADT und CLARK (49), TRIGUEROS (129), VERWEY (133), OEDING (91), HAUKENES, OEDING und LOSNEGARD (44), PILLET, ROUYER und ORTA (95).

Nucleoproteine und Nucleinsäure: Diese mehrmals in St. gefundenen Stoffe sind nach HAUKENES, OEDING und LOSNEGARD (44) mit Säure fällbar.

Antigen A von JENSEN: Im Gegensatz zu JENSEN (53), der diesen Stoff als Polysaccharid ansah, beweisen neuere Untersuchungen von LÖFKVIST und SJÖQUIST (69, 70, 71), daß es sich um ein durch Trypsin zerstörbares Protein handelt.

Polysaccharide: JULIANELLE und WIEGHARDT (55) isolierten aus St. je ein Polysaccharid, A und B, die sich serologisch und chemisch von einander unterscheiden. THOMPSON und KHORAZO (128) beschrieben noch eine weitere Fraktion C. Von BADDILEY (4) und anderen Autoren wurde die sogenannte Teichosäure untersucht, deren Strukturformel aufgeklärt werden konnte. Ihr Molekulargewicht beträgt etwa 6000, das Molekulargewicht der alaninfreien Einheit 417. Diese Einheiten sind L- β -glycosidisch gebunden, es sind aber auch α -glycosidische Bindungen bekannt (z.B. das Polysaccharid A;

HAUKENES (43) und OEDING (91)). Immunologische Untersuchungen über das Polysaccharid A liegen von HAUKENES (43) vor, der diesen Stoff weitgehend rein darstellte. Die isolierte Substanz enthielt 3,9 % N, 23 % Aminohexosen, 5,6 % organisch gebundenen Phosphor, kein Protein, keine Nucleinsäure. Die spezifische Drehung betrug $-11,5^{\circ}$. Das UV-Absorptionsspektrum zeigte keine charakteristischen Maxima.

Eigene Untersuchungen

I. M a t e r i a l

1.) Cellophankulturfiltrate:

Das Cellophankulturfiltrat wurde nach der von BIRCH-HIRSCH-FELD angegebenen Methode aus 10 verschiedenen pathogenen Str.aur.-Stämmen hergestellt (SCHRÖPL, MÜLLER, RÖCKL (113)).

Die Keime wurden auf cellophanbedeckten Blutagarplatten kultiviert und nach 24-stündiger Bebrütung (37°C) mit Phosphatpuffer (pH 7,2) abgeschwemmt. Die Masse der Keime wurde abzentrifugiert, das Supernatant mittels Membranfilter steril filtriert.

Es wurde Hammelblut verwendet, jedoch hat die Verwendung verschiedener Blutsorten keinen Einfluß auf die ekzematogene Aktivität (SCHRÖPL).

2.) Versuchspersonen:

Die Tests wurden an stationären Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik München vorgenommen. Ekzematiker wurden bevorzugt.

II. M e t h o d i k

1.) Epicutantests:

Sterile Leinenlappchen von etwa 15 mm Durchmesser wurden mit 0,05 ml Cellophankulturfiltrat (CKF), bzw. der zu testenden Lösung getränkt und auf die klinisch unveränderte und ungeschädigte Rückenhaut der Versuchspersonen aufgebracht. Um Pflasterreaktionen in unmittelbarer Umgebung des Testareals zu vermeiden, wurden sie mit Cellophanplättchen von 20 mm Durchmesser bedeckt und mittels Testpflaster für 24 Stunden befestigt. Die Reaktionen wurden makroskopisch 10 Min. nach Entfernung der Testpflaster, sowie nach weiteren 24 Stunden abgelesen. Eine durch Cellophanplättchen hervorgerufene Reaktion wurde nicht beobachtet (HJORTH (48): 0,065 % bei 23000 Personen).

2.) Bewertung der Reaktionen:

- Ø keine sichtbare Reaktion
- ± einzelne, gering gerötete Fleckchen im Testareal
- (+) Testareal flächenhaft gering erythematös
- + flächenhafte mäßige Rötung mit einzelnen Papeln
- ++ mäßig starke Rötung, Schwellung und zahlreiche Papeln.

Die als ± bezeichneten Reaktionen wurden als negativ bewertet.

3.) Histologische Bilder:

Zur Sicherung des Vorliegens einer allergischen Reaktion

wurde das feingewebliche Bild nach den Forderungen von MIESCHER (81) herangezogen. Spezifisch für die allergische Kontaktreaktion ist dabei die lymphozytäre, basale, herdförmige Spongiose (MIESCHER (81), LETTERER (67)). In einzelnen Fällen wurden bei positiven Epicutantest Probeexcisionen in Lokalanästhesie (Histocain) vorgenommen. Die mit Bouin'scher Lösung fixierten und in Paraffin eingebetteten Excisate wurden nach dem Schneiden mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt. (Die Beurteilung der histologischen Präparate erfolgte durch Herrn Priv. Doz. Dr. F. Schröpl.)

4.) Ultrafiltration:

Die Ultrafiltration wurde mit einem Metalldruckfiltrationsgerät (Membranfiltergesellschaft Göttingen) unter Verwendung der Filtertype LSG 60 durchgeführt. Der Überdruck von 12 atü wurde mit technischem Stickstoff erzeugt.

5.) Einengen der Lösungen:

Die Lösungen wurden mittels eines Rotationsverdampfers (BÜCHI, St.Gallen) bei der Arbeitstemperatur von höchstens 35°C eingeeengt.

6.) Gewichtsbestimmung:

Das zu wiegende Material wurde im Rotationsverdampfer und sodann im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz eingetrocknet.

7.) Gelfiltration:

Die Gelfiltration erfolgte mittels verschiedener Dextrangele

der Firma Pharmacia (Uppsala), und zwar mit Sephadex G-25 Medium in Pulverform, G-50 fine und G-75 fine in Körnerform. Durch diese Gele werden Moleküle verschiedener Größe in ungleichem Maße zurückgehalten. Mit der Front wandern die höchstmolekularen Stoffe des Substanzgemisches. Es werden Moleküle bis zu einem Molekulargewicht von 9000 verzögert. Alle größeren Moleküle wandern gemeinsam mit der Front. Daher eignet sich Humanalbumin recht gut zur Frontbestimmung. Das Gel wurde nach den von der Firma angegebenen Richtlinien 24 Stunden lang in Wasser gequollen und wiederholt mit Wasser ausgewaschen. Es wurde anschliessend in Chromatographierohre mit einem Durchmesser von 2,5 cm eingeschlemmt. Die Glasrohre waren mit einer Glasfritte vom Typ G-2 versehen. Für einige Zeit wurde das Gel mit Wasser durchströmt, wobei ein etwa 20 cm über dem oberen Gelniveau angebrachter Erlenmeyerkolben als Wasserreservoir diente. Sodann wurde durch Unterbrechung des Zuflusses der Wasserspiegel über dem Gel soweit gesenkt, daß dessen Oberfläche gerade noch bedeckt war. In diesem Moment wurde das zu trennende Substanzgemisch mit einer Pipette vorsichtig aufgetragen und zugleich mit dem Auffangen der ersten Fraktionen in graduierte Reagenzgläser begonnen. In der folgenden Zeit wurde Wasser als Elutionsflüssigkeit mit einer Pipette vorsichtig nachgefüllt; später, wenn das Substanzgemisch schon einige Zentimeter in das Gel eingedrungen war, wurde die Säule wieder an das Reservoir angeschlossen. Es wurde ein etwa 5 cm über dem Gelbettniveau stehender Wasserspiegel eingestellt (Abb. 1).

Die besten Trennergebnisse würden sich erzielen lassen, wenn die aufgetropfte Menge des zu fraktionierenden Materials nur eine dünne Schicht bilden würde, da dann der Beginn der Filtration für alle Moleküle des Materials zeitlich derselbe wäre. Da jedoch die Forderung ekzemato-gen aktiver Konzentrationen nur durch größere Mengen an Ausgangsmaterial erfüllt werden kann, verwischt sich die Trennung etwas. Bei Verwendung von Gelsäulen mit größerem Durchmesser, auf denen größere Mengen in geringerer Schichtdicke aufgetragen werden könnten, ergibt sich die Schwierigkeit des gleichzeitigen Auftropfens des Materials auf alle Punkte des Querschnitts.

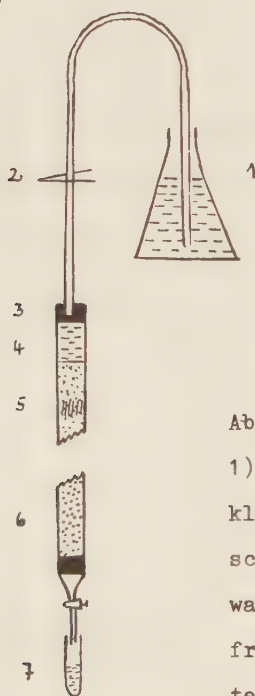


Abb. 1

1) H₂O-Reservoir; 2) Schlauch-
klemme; 3) luftdichter Ver-
schluß; 4) H₂O; 5) Gel mit
wandernden Fraktionen; 6) Glas-
fritte; 7) Reagenzglas mit Un-
terfraktion

8.) Farbreaktionen:

Aus jeder Fraktion wurde ein Tropfen auf je drei Streifen Whatman 1-Papier eingetrocknet, die zur Identifizierung von Eiweiß, Peptiden und Polysacchariden mit Ninhydrin, Amidoschwarz und Mucikarmin gefärbt wurden, nach der von BLOCK, DURRUM, ZWEIG (15) und HAIS und MACEK (42) angegebenen Technik.

9.) UV-Absorptionsmessungen:

Die Messungen wurden mit einem Beckman - Spektrophotometer (Modell DU/G 2400) bei einer Schichtdicke von 1 cm in Quarzküvetten durchgeführt.

10.) Elektrophoretische Untersuchungen:

Elektrophoresen wurden auf Whatman 1-Papier durchgeführt, unter Verwendung von Elphor-Standardkammern (Bender & Hobein, München). Die Spannung von 100 - 400 Volt lieferte ein Drucktastenspeisegerät der gleichen Firma. Es wurde Michaelispuffer verwendet (pH 8,6; Ionenstärke 0,05).

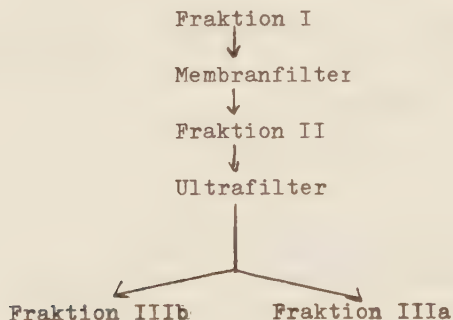
III. E_r_g_e_b_n_i_s_s_e

1.) Fraktionierung des CKF:

Beim Cellophankulturfiltrat handelt es sich um eine klare, hellgelbe Flüssigkeit, deren Farbtiefe sich bei 10-facher Konzentrierung im Rotationsverdampfer zu dunkelgelb steigert. Die Farbe ist bei Verwendung von Kulturplatten ohne Blutzusatz nicht so intensiv. Nach längerem Stehen, sowohl bei Zimmertemperatur, wie bei 4°C, findet sich ein zum Teil kristalliner Niederschlag. Es wurde bei den Versuchen mit CKF stets die Suspension dieses Niederschlags verwendet (Aufschütteln der Lösung).

Die Ausbeute an Trockensubstanz lag zwischen 880 mg% und 1570 mg%, im Mittel bei 1170 mg%. Für die Pufferlösung errechnete sich der Wert zu 90 mg%.

Aus dem Supernatant der abzentrifugierten Cellophankulturen (Fraktion I) wurde mittels eines bakteriendichten Membranfilters das Cellophankulturfiltrat (Fraktion II) gewonnen. (Schema)



1a.) Trennung der Fraktion II an Sephadex G-25:

Von der so gewonnenen Fraktion II wurden 1,3 ml an einer mit G-25 gefüllten Glasröhre (ϕ 1 cm, Gelbettvolumen 40 ml) getrennt. Die Fraktionierung geschah in Einheiten zu je 2 ml. Abb. 2 zeigt die zu dieser Trennung erhaltene UV-Absorptionskurve bei der Wellenlänge von 280 $\mu\mu$, sowie die dazugehörige Farbreaktion. Die Fraktionen wurden, wie ersichtlich ist, zu vier größeren Einheiten A, B, C, D zusammengefaßt, die je auf 1 ml eingengt und getestet wurden.

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, liegt die ekzematogene Aktivität in den Fraktionen A und B.

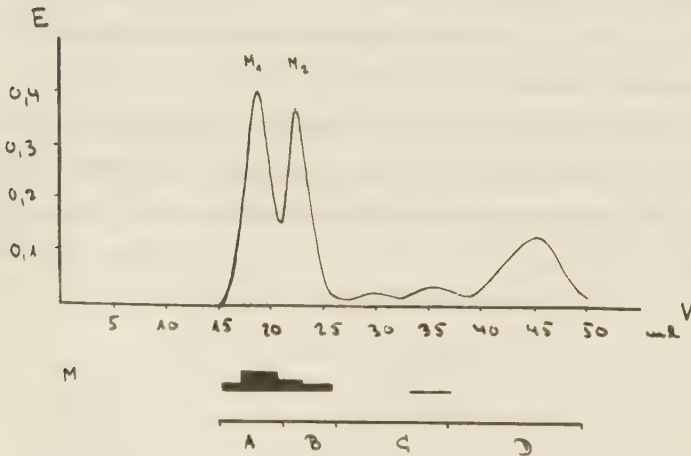


Abb. 2 Trennung der Fraktion II an G-25

V: Elutionsvolumen; E: Extinktion bei 280 $\mu\mu$

M: Mucikarmin-positives Material

	Fraktion II	A	B	C	D
VP 1	+	$\pm$	+	$\emptyset$	$\emptyset$
2	(+)	(+)	$\emptyset$	$\emptyset$	$\emptyset$
3	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\emptyset$	$\emptyset$
4	+	(+)	(+)	$\emptyset$	$\emptyset$
5	+	+	+	$\emptyset$	$\emptyset$

Tabelle 1 Ergebnisse der Epicutantests mit den aus Fraktion II durch Gelfiltration an G-25 gewonnenen Unterfraktionen.

VP = Versuchsperson

Bei der Trennung an g-25 überschneit sich noch deutlich mucikarmin-positives Material mit ninhydrin-positivem. Die UV-Absorptionsspektren der verunreinigten Polysaccharidfraktionen in den Maxima M_1 und M_2 zeigt Abb. 3.

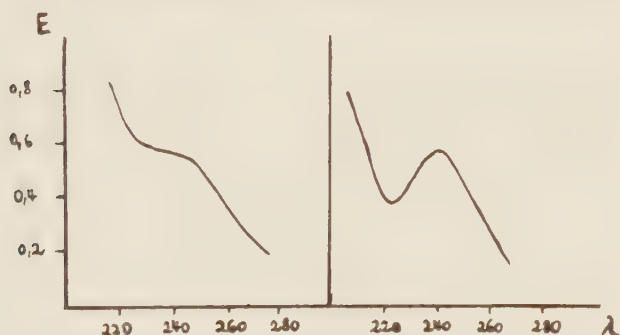


Abb. 3 UV-Spektren zu M_1 und M_2 der Abb. 2
E: Extinktion; λ : Wellenlänge

1b.) Trennung der Fraktion II an Sephadex G-50:

Um polysaccharid- und eiweißhaltige Fraktionen besser voneinander trennen zu können, wurde eine Fraktionierung an G-50 vorgenommen, dazu an einer größeren Säule ($\varnothing$ 2,5 cm, GBV 250 ml).

10 ml der unkonzentrierten Fraktion II wurden wie beschrieben aufgetragen und die Trennung in Unterfraktionen zu je 10 ml durchgeführt. Die UV-Absorptionskurve zeigt ähnliche Verhältnisse, wie sie bei der Trennung an G-25 gefunden wurden. Es ergaben sich zwei Maxima, mit denen die Mucikarminfärbung zusammenfiel. (Abb. 4). Im Bereich der Polysaccharide finden sich mit Ninhydrin färbbare Substanzen erst nach starkem Einengen. Die nachfolgende kleinmolekulare Ninhydrinfraktion war bei diesem Trennvorgang besser abgegrenzt, als bei der Verwendung von Sephadex G-25. Für die Epicutantests wurden wieder vier Fraktionen gebildet, die auf je 0,25 ml eingeeengt wurden. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

Die UV-Absorptionsspektren der in den beiden ersten Maxima liegenden Unterfraktionen unterscheiden sich kaum von den bei der Trennung an G-25 gewonnenen (Abb. 5).

Die bisherigen Trennungen der Fraktion II zeigen, daß der aktive Stoff an G-25 mit der Front wandert, an G-50 mit der Front und dem darauf folgenden Bereich.

Alle im Test wirksamen Fraktionen enthielten Polysaccharidmaterial.

Die bei Versuchsperson 2 entnommene Probeexcision auf Fraktion A zeigt die Charakteristika der allergischen Kontakt-

reaktion.

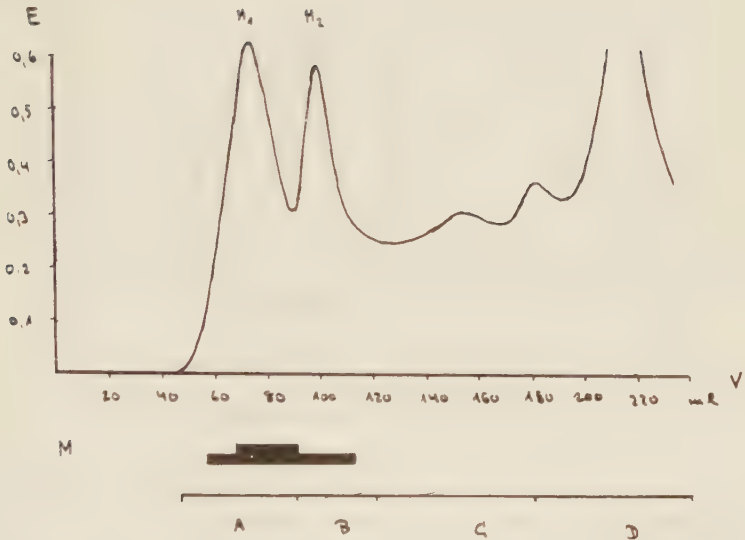


Abb. 4 Trennung der Fraktion II an G-50
V: Elutionsvolumen; E: Extinktion bei 280 $\mu\mu$
M: Mucikarmin-positives Material

	Fraktion II	A	B	C	D
VP 1	+	+	∅	±	±
2	+	+	±	±	∅
3	(+)	(+)	(+)	∅	∅
4	+	+	+	±	∅
5	+	+	∅	±	±

Tabelle 2 Ergebnisse der Epicutantests mit den an G-50 aus Fraktion II gewonnenen Unterfraktionen.

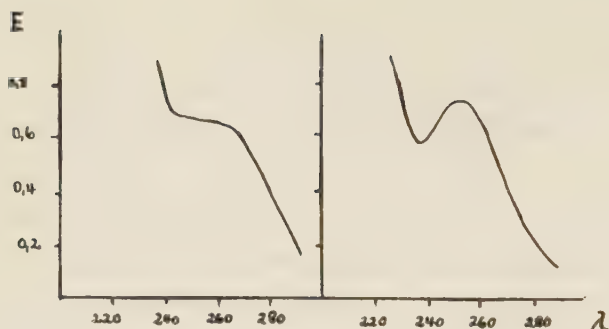


Abb. 5 UV-Spektren zu M_1 und M_2 der Abb. 4

E: Extinktion; λ : Wellenlänge

1c.) Trennung der Fraktion II an Sephadex G-75:

Zur weiteren Abgrenzung des aktiven Stoffes wurde in einer dritten Trennung Sephadex G-75 (in Körnerform) verwendet.

5 ml der 10-fach konzentrierten Fraktion II wurden an einer G-75-Säule, deren Gelbettvolumen bei einem Durchmesser von 2,5 cm 100 ml betrug, in Einheiten zu je 5 ml getrennt.

Nach Probefärbungen und Messung der UV-Absorption bei 280 $\mu\mu$ wurden, wie aus Abb. 6 hervorgeht, die Fraktionen O, A, B, C usw. gebildet. Diese wurden jeweils auf 2,5 ml eingeeengt und in der beschriebenen Weise getestet.

(Tabelle 3)

Es erwies sich also, abgesehen von einer schwach positiven Reaktion auf Fraktion O bei Versuchsperson 10 nur polysaccharidhaltiges Material als ekzematogen.

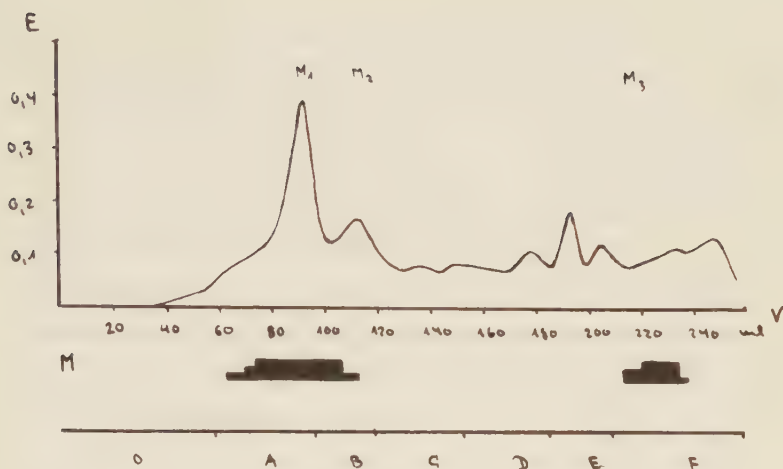


Abb. 6 Trennung der Fraktion II an G-75
 V: Elutionsvolumen; E: Extinktion bei 280 $\mu\mu$
 M: Mucikarminpositives Material

Hier zeigen sich also zwei polysaccharidhaltige ekzema-
 togene Fraktionen, die sich durch ihr Molekulargewicht von-
 einander unterscheiden und mit

	P_1	(hochmolekular)
und	P_2	(niedermolekular)

bezeichnet sein mögen.

Es muß allerdings gesagt werden, daß bei starkem Einengen
 die Ninhydrinreaktion in diesen Fraktionen immer noch
 schwach positiv war.

Fraktion	II	O	A	B	C	D	E	F
VP 1	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅	++
2	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
3	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
4	++	∅	∅	∅	∅	∅	∅	+
5	++	∅	(+)	(+)	∅	∅	∅	+
6	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
7	+++	∅	+	<u>±</u>	∅	∅	∅	+
8	+	∅	+	∅	∅	∅	∅	+
9	+	<u>±</u>	+	<u>±</u>	∅	∅	∅	+
10	+++	(+)	+	+	∅	∅	∅	+

Tabelle 3 Ergebnisse der Epicutantests mit den an G-75 aus Fraktion II gewonnenen Unterfraktionen.

2.) Untersuchung des Ultrafiltrats:

MIESCHER, LINCKE und STORCK (82) hatten festgestellt, daß der aktive Stoff hochmolekular sei. Ausgehend von dieser Beobachtung wurde das CKF am Ultrafilter untersucht. Damit wird noch einmal die Möglichkeit einer grob orientierenden Molekulargewichtsbestimmung gegeben, da Moleküle mit einem Gewicht von 10000 (annähernd) den verwendeten Filter nicht passieren.

Der ultrafiltrable Anteil aus Fraktion II wurde als Fraktion IIIa bezeichnet. In Bezug auf Aussehen, Geruch und Niederschlag unterscheidet sie sich makroskopisch nicht von

Fraktion II.

Das nicht filtrierbare Material (Fraktion IIIb) ist geruchlos, leicht opaleszierend und viskös. Aus der Lösung scheidet sich ein weißer Niederschlag ab.

Trotz mehrmaligen Nachwaschens mit aqua dest. behielt der Ultrafilter eine gelbliche Farbe.

Die unkonzentrierte Fraktion IIIa hatte einen Gehalt an Trockensubstanz von 800 mg%, Fraktion IIIb einen solchen von 40 mg%. Der Verlust an Trockensubstanz (Fraktion II: 1157 mg%) war also beträchtlich.

Die Fraktion IIIa und IIIb wurden an insgesamt 125 Versuchspersonen getestet, die sämtlich auf das Ausgangsmaterial (Fraktion II) positiv reagiert hatten. Die Ergebnisse der Epicutantests zeigt Tabelle 4.

Nur	auf Fraktion IIIa	reagierten 37 VP positiv
Nur	auf Fraktion IIIb	reagierten 21 VP positiv
	Auf Fraktion IIIa und IIIb	reagierten 20 VP positiv
	Weder auf Fraktion IIIa noch IIIb	reagierten 47 VP

Tabelle 4 Ergebnisse der Epicutantests mit den durch
 Ultrafiltration gewonnenen Fraktionen IIIa
 und IIIb

Bei zehn Versuchspersonen, die auf CKF nicht reagiert hatten, zeigte sich auch keine Reaktion auf die Fraktionen IIIa und

IIIb.

Je eine aus Reaktionen auf IIIa bzw. IIIb gewonnene Probe-excision zeigte histologisch das Bild der allergischen Kontaktreaktion.

Daraus könnte wiederum geschlossen werden, daß es sich bei den ekzemauslösenden Stoffen um zwei Fraktionen handelt, die sich durch ihr Molekulargewicht (über 10 000, bzw. unter 10 000) unterscheiden; denn ihre ekzematogene Aktivität ist verschieden (IIIa: 57 Reaktionen, IIIb: 41 Reaktionen.)

3.) Gelfiltration des ultrafiltrablen Anteils IIIa:

Um das aktive Prinzip nun auch aus dem Ultrafiltrat zu isolieren, wurden 5 ml der 10-fach konzentrierten Fraktion IIIa an einer G-50-Säule (ϕ 2,5 cm, GBV 100 ml) getrennt, nachdem zuvor der beschriebene Niederschlag durch ein Membranfilter entfernt worden war.

Es zeigte sich eine knapp hinter der Front wandernde Polysaccharidfraktion, die zur weiteren Reinigung von ninhydrinpositivem Material nochmals an einer G-25-Säule der gleichen Dimensionen filtriert wurde. Die so erhaltene Polysaccharidfraktion wurde auf 1 ml eingeeengt. Das gewonnene Konzentrat (P-X) wurde an 14 Versuchspersonen getestet, die alle auf Fraktion II positiv reagiert hatten (Tabelle 5).

11 der 14 Versuchspersonen reagierten auf Fraktion IIIa, 8 VP auf P-X. Dabei unterschied sich die Stärke der Reaktionen auf diese beiden Fraktionen nicht signifikant.

Fraktion	II	IIIa	P-X
VP 1	+	(+)	(+)
2	+++	+	+
3	+++	(+)	(+)
4	+++	++	++
5	++	(+)	+
6	++	+	+
7	++	(+)	(+)
8	++	(+)	(+)
9	++	(+)	±
10	+	+	±
11	++	(+)	±
12	++	±	±
13	++	∅	∅
14	++	∅	∅

Tabelle 5 Ergebnisse der Epicutantests mit P-X,
gewonnen aus IIIa an G-50

4.) Weitere Reinigung des aktiven Prinzips:

Um noch vorhandene Verunreinigungen zu entfernen, wurden in einem weiteren Versuch 2 ml der 10-fach konzentrierten Fraktion IIIa wie im vorhergehenden an G-50 getrennt. Das gesamte polysaccharidhaltige Material wurde, auf 5 ml eingengt, nochmals an G-25 gereinigt. Das so erhaltene mucikarmin-positive Material wurde mit einem Überschuß an Äthanol gefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst

und erneut an Sephadex G-50 filtriert. Polysaccharidhaltiges Material wanderte etwas hinter der Front. Aus ihm wurden nach Trocknung 4,2 mg eines durchsichtigen Films gewonnen. Dieses mit P-X-A bezeichnete Material wurde in 1,2 ml Wasser gelöst. Die Tests erfolgten mit einer Menge von jeweils 0,1 ml. Wie Tabelle 6 zeigt, wurden mit P-X-A deutliche Reaktionen erzielt.

	Fraktion	II	IIIa	P-X-A
VP 1		++	++	++
2		++	+	+
3		+++	++	+
4		+	(+)	<u>±</u>
5		+	(+)	<u>±</u>

Tabelle 6 Epicutantests mit der durch Äthanol-
fällung gewonnenen Fraktion P-X-A.

Bei zwei Versuchspersonen vorgenommene Probeexcisionen bestätigten, daß es sich um eine allergische Kontaktreaktion handelte.

Aus diesem Ergebnis kann der Schluß gezogen werden, daß der ekzematogene Stoff im Ultrafiltrat Polysaccharidcharakter hat.

Das UV-Absorptionsspektrum zeigt keine besonderen Charakteristica (Abb. 7). Da die Kurve bei 280 $\mu\mu$ bzw. 260 $\mu\mu$

keine Maxima aufweist, kann das Vorliegen von Eiweißstoffen bzw. Nukleinsäuren ausgeschlossen werden.

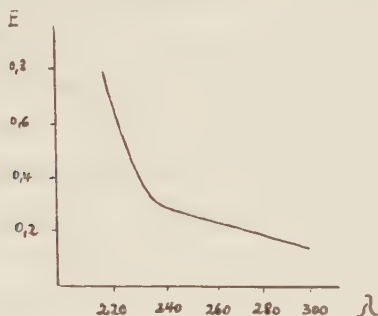


Abb. 7 UV-Spektrum zu Fraktion P-X-A
E: Extinktion; λ : Wellenlänge

Ein weiterer Anhaltspunkt für den einheitlichen Charakter der Fraktion P-X-A ergab sich aus der papierelektrophoretischen Untersuchung. Es lag nur eine einheitliche Fraktion vor. Sie wanderte anodisch und ließ sich mit Mucikarmin gut anfärben.

Eine vergleichende Elektrophorese mit dem Leermaterial, in dem P-X-A nicht vorkam, sicherte das Polysaccharid als Stoffwechselprodukt von St. aur. häm..

Diskussion

Bei der Gelfiltration des Cellophankulturfiltrats (CKF) wurden zwei, sich im Molekulargewicht deutlich unterscheidende, ekzematogen aktive Fraktionen - P_1 und P_2 - gefunden, die beide polysaccharidhaltig waren. Die der großmolekularen Fraktion P_1 an Sephadex G-75 entsprechende Fraktion wurde jedesmal auch an Sephadex G-25 und G-50 gefunden, und zwar in den erwarteten Abschnitten kurz hinter der Front. Schon bei der Filtration an Sephadex G-25 deutete sich neben P_1 die kleinmolekulare Fraktion an, jedoch scheint dort die Konzentration zur Auslösung von Ekzemen zu gering gewesen zu sein.

Nach der Auftrennung des CKF in hochmolekulare und in niedermolekulare Anteile durch Ultrafiltration, fand sich in der ultrafiltrablen Fraktion IIIa ebenfalls eine an Sephadex G-50 knapp hinter der Front wandernde Polysaccharidfraktion (P-X), die anschließend durch Äthanol-fällung gereinigt werden konnte (P-X-A).

P-X-A zeigt Charakteristika, die durchaus an ein Polysaccharid denken lassen: Wasserlöslichkeit und Äthanolunlöslichkeit, ergänzt durch die nach HORTON und WOLFROM (50) für ein Polysaccharid typische Bildung eines durchsichtigen Films. Außerdem ähnelte das UV-Absorptionsspektrum des gereinigten Stoffes dem von HAUKENES (43) für das Polysaccharid A beschriebenen "uncharakteristischen" Spektrum, und es wäre zu diskutieren, ob eine nähere Verwandtschaft zu diesem Stoff vorliegt.

Aufgrund der vorgenommenen Tests und der nach den Kriterien von MIESCHER (81) histologisch ausgewerteten Probeexcisionen ist es kaum zweifelhaft, daß der aus dem Ultrafiltrat gewonnene Stoff P-X-A - mit großer Wahrscheinlichkeit aus Polysaccharid bestehend - ein Ekzematogen ist.

Da an Sephadex G-50 Stoffe mit einem Molekulargewicht von über 8 000 - 10 000 mit der Front wandern, dürfte das Molekulargewicht von P-X bei etwa 7000 liegen, denn die Fraktion wird etwas verzögert.

Wie die Vergleichsuntersuchungen von CKF und Fraktion IIIa an Sephadex G-50 zeigen, hat eine der Fraktion P_1 recht ähnliche Fraktion den Ultrafilter passiert.

Da Fraktion P_2 , wie aus der Gelfiltration an Sephadex G-75 hervorgeht, ein geringeres Molekulargewicht als Fraktion P_1 hat, ist es sehr wahrscheinlich, daß auch P_2 den Ultrafilter passiert hat. Allerdings ließ sich in der Untersuchung des Ultrafiltrats an Sephadex G-50 neben der kurz hinter der Front wandernden Fraktion P-X keine kleinmolekulare Fraktion getrennt nachweisen. Für die theoretische Möglichkeit, daß die kleinemolekulare Fraktion den Ultrafilter nicht passiert hat, liegen keine Gründe vor.

Berücksichtigt man nun das an 125 Versuchspersonen gewonnene Ergebnis, daß sowohl die ultrafiltrable Fraktion IIIa, als auch die nicht ultrafiltrable Fraktion IIIb wirksam ist, wobei Fraktion IIIa eine größere Spezifität zukommt (57 gegenüber 41 positive Tests), daß es sich also um zwei sich unterscheidende aktive Prinzipien handelt, so wäre eine Er-

klärung der Versuchsergebnisse folgendermaßen möglich:

P_1 ist zusammengesetzt aus zwei Bausteinen, etwa q und r , die getrennt schon eine gewisse ekzematogene Wirkung zeigen und von denen mindestens einer ultrafiltrabel ist. Danach wären im CKF enthalten:

$$P_1 ; q ; r ; P_2$$

Diese Darstellung würde die Möglichkeit nicht ausschließen, daß r mit P_2 identisch sein könnte, P_2 somit zu den Vorstufen von P_1 zu rechnen wäre (Abb. 8).

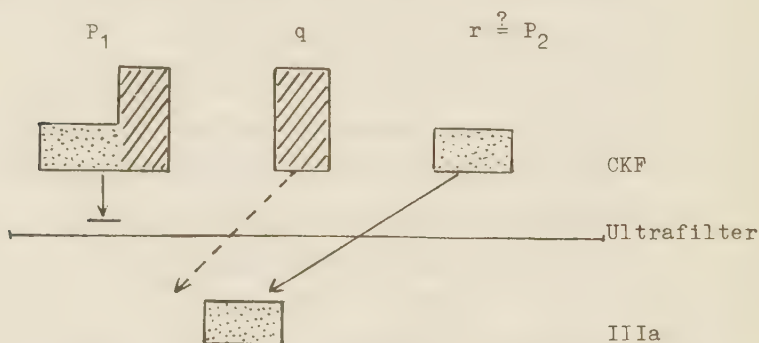


Abb.8

▨ Peptid?; Protein?; ▤ Polysaccharid

Man könnte bezüglich P_1 und q an die bei den Gelfiltrationen des CKF vorkommenden beiden Maxima M_1 und M_2 im Bereich der ersten mucikarminpositiven Fraktionen denken, jedoch liegt dafür kein Beweis vor.

Durch diese Überlegungen würden die Versuchsergebnisse erklärt:

- a) Beide Fraktionen, die ultrafiltrable (IIIa) und die nicht ultrafiltrable (IIIb), sind wirksam, unterscheiden sich aber in ihrer Spezifität;
- b) Im CKF finden sich bei der Gelfiltration an Sephadex G-75 zwei Ekzematogene, von denen eines kurz hinter der Front wandert;
- c) Im Ultrafiltrat findet sich ein an Sephadex G-50 im Frontbereich wandernder aktiver Stoff.

Vergleicht man diese Ergebnisse mit den Arbeiten von ROBERT (101) und von MIESCHER, LINCKE und STORCK (82), so ließe sich diskutieren, ob das von letzteren Autoren gefundene Albumin etwa dem hypothetischen Stoff "q" entsprechen könnte. In P_1 war bei starkem Einengen die Ninhydrinreaktion ja immer noch, wenn auch schwach, positiv.

Die Ergebnisse von ROBERT finden eine Bestätigung.

Abgesehen davon ist mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit anzunehmen:

Im CKF sind zwei ekzematogen aktive Fraktionen zu finden, die Polysaccharid enthalten und sich im Molekulargewicht deutlich unterscheiden.

ferner: der im Ultrafiltrat enthaltene Stoff P-X-A ist ein Ekzematogen.

Aus der Histologie der in einzelnen Fällen entnommenen Pro-

beexcisionen läßt sich schließen, daß eine allergische Reaktion auf die isolierten Stoffe vorlag. Die Abgrenzung zur primär toxischen Reaktion läßt sich mit absoluter Sicherheit histologisch allerdings nicht treffen, da es nach LETTERER (67) und SPIER (121) einen Beweis für die Existenz eines für allergische Reaktionen spezifischen Bildes noch nicht gibt.

Immerhin sind nach HANDMANN (7) keine primär irritierenden Stoffe bekannt, deren histologische Reaktionsbilder die von MIESCHER für allergische Reaktionen beschriebenen Charakteristika zeigen: die lymphozytäre, basale, herdförmige Spongiose.

Nach SCHRÖPL hat die Verwendung verschiedener Blutsorten zur Herstellung der Cellophankulturen keinen Einfluß auf die ekzematogene Aktivität. Die Ekzemauslösung hängt also nicht vom Nährmedium ab, wie dies für Toxine der Fall ist. (ELEK (29))

Die ekzematogenen Eigenschaften des CKP sind hinreichend bekannt (SCHRÖPL, MÜLLER, RÖCKL (114, 115), MÜLLER, SCHRÖPL, RÖCKL (86), RÖCKL und SCHRÖPL (103)). Dabei ist nach MIESCHER (81) und SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (113) die adäquate Methode der Epicutantest.

Vergleichsuntersuchungen mit dem Leermaterial ergaben, daß diesem keine ekzematogene Eigenschaft zukommt.

Eine Verringerung der Spezifität ergibt sich aus der Verwendung eines Mischfiltrats aus zehn pathogenen Stämmen. Man hat dadurch aber mit mehr positiven Tests zu rechnen, da die

einzelnen Probanden im Epicutantest auf Staphylokokkenstämmen und Kulturfiltrate unterschiedlicher Herkunft verschieden zu reagieren pflegen (STORCK (122), RÖCKL (102)).

Die Versuche zeigen, daß man bei der Isolierung der ekzematogen aktiven Stoffe auf erhebliche Schwierigkeiten trifft und daß es weiterer Untersuchungen zur endgültigen Klärung der hier auftauchenden Probleme bedarf. Es ist ja bekannt, daß die Fraktionierung von antigenen Staphylokokkenstoffen durch Fällungsmethoden außerordentlich variable Ergebnisse liefert, die sich auch nicht immer reproduzieren lassen (G. HAUKENES, N. LOSNEGARD und P. OEDING (44)).

Zusammenfassung

Im ersten Teil der Arbeit werden die bekanntesten, experimentell untersuchten Ekzematogene in Bezug auf Gemeinsamkeiten im chemischen Aufbau dargestellt. Dies ist, ausser bei einigen anorganischen Verbindungen, vor allem für Benzolderivate und andere organische Substanzen möglich, deren Aktivität besonders von der Art und der Stellung von Substituenten und Gruppen abhängt.

Bezüglich des mikrobiellen Ekzems, wird hervorgehoben, daß an der Rolle der Staphylokokken für dessen Genese heute kein Zweifel besteht. Anschließend werden die Arbeiten der Autoren besprochen, die sich bisher mit der Isolierung der ekzematogenen Substanzen aus Staphylokokken, bzw. deren Stoffwechselprodukten, befaßt haben. Es wird auf die Verschiedenheit der Ergebnisse hingewiesen.

Daher wird, nach einem Überblick über alle bisher in Staphylokokken-Stoffwechselprodukten untersuchten Stoffe, der Versuch unternommen, mittels der Gelfiltration aus dem Cellophankulturfiltrat (CKF) der Staphylokokken die für die Ekzemauslösung verantwortlichen Stoffe erneut zu isolieren.

Dabei wird festgestellt, daß sich in dem, als Ausgangsmaterial verwendeten Cellophankulturfiltrat aus zehn pathogenen Staphylokokkenstämmen zwei, sich im Molekulargewicht unterscheidende, ekzematogen aktive Fraktionen finden lassen, die polysaccharidhaltig sind.

Dem Leermaterial kommt keine ekzematogene Eigenschaft zu.

Nach der Auftrennung des CKF in einen ultrafiltrablen und einen nicht ultrafiltrablen Anteil, wird festgestellt, daß beide Anteile unterschiedlich ekzematogen aktiv sind.

Aus dem ultrafiltrablen Anteil wird durch Gelfiltration und Äthanol-fällung ein Ekzematogen gewonnen, das wahrscheinlich ein Polysaccharid ist.

Bei der Besprechung der Versuchsergebnisse wird die Verwandtschaft dieses Ekzematogens mit dem Polysaccharid A diskutiert.

Es wird eine Hypothes aufgestellt, welche die Ergebnisse erklären und sie eventuell mit den Ergebnissen der anderen Autoren vereinbaren könnte.

Schließlich wird betont, daß es zur endgültigen Klärung des Problems weiterer Versuche bedarf.

Literaturverzeichnis

1. ALAMI, S.Y. and F.C. KELLEY J. Bact. 78, 539 (1959)
2. ALEXANDER, M., L.A. HEPPEL J. Biol Chem. 236, 3014
and J. HURWITZ (1961)
3. AOI, F. Kitasato Arch. exp. Med.
9, 171 (1932); zit. nach
ELEK (1959)
4. BADDILEY, J., J.G. BUCHA- Bioch. Biophys. Acta
NAN, F.E. HARDY, R.O. MAR- 52, 406 (1961)
TIN, U.L. RAJBHANDARY and
A.R. SANDERSON
5. BAER, R.-L. Arch. Dermat. Syph.
(Chicago) 58, 276 (1948)
6. BAER, R.-L., M. LEIDER Proc. Soc. exp. Biol.
and R.-L. MAYER 67, 489 (1948)
7. BANDMANN, H.-J. IV. Mitt. Hautarzt 11,
393 (1960)
8. BERGAMINI, L. Zbl. Bakt. I Orig. 165,
122 (1956)

20. CHRISTIE, R., J.J. GRAYDON Austr. J. exp. Biol. med.
and E.F. WOODS Sci. 23, 127 (1945); zit.
nach ELEK (1959)
21. DAVISON, M.M., M.A. DEROW J. Bact. 58, 717 (1949)
and B.S. WALKER
22. DAY, H.B. Brit. J. exp. Path. 9,
198 (1928)
23. DISCOUET, R. C.R. Soc. Biol. (Paris)
118, 1277 (1935)
24. ----- Press. med. 53, 653 (1945)
25. DRUMMOND, M.C. and M. TRAGER J. Bact. 83, 432 (1962)
26. DUTHIE, E.S. and G. HAUGHTON J. Bioch. 70, 125 (1958)
27. DUTHIE, E.S. and L.L. LORENZ J. Gen. Microbiol. 6, 95
(1952)
28. EISEN, H.N., L. ORRIS and J. exp. Med. 95, 473
S. BELMANN (1952)
29. ELEK, S.D. Staphylococcus pyogenes
and its relation to di-
sease. Livingstone, Edin-
burg, London (1959)

30. ELEK, S.D. and E. LEVY J. Path. Bact. 62, 541
(1950b)
31. EVERALL, J.D. and Arch. Derm. Syph. (Chi-
E.V. TRUTER cago) 75, 428 (1957)
32. FLODIN, P. Dextran gels and their
application in gel fil-
tration. Meijels Bokin-
dustrie, Halmstad 1962
33. FREI, W. J. invest. Derm. 5, 29
(1942)
34. FREY, J.R. und P. WENK Dermatologica (Basel)
116, 243 (1958a)
35. ----- Dermatologica (Basel)
117, 154 (1958b)
36. GARDNER, J.F. Brit. J. exp. Path. 30,
130 (1949)
37. GLENNY, A.T. and M. STEVENS J. Path. Bact. 40, 201
(1935)
38. GRAUL, E.H. Arch. Derm. Syph. (Berl.)
188, 320 (1949b)

39. GRAUL, E.H. und K.W. KALKOFF Arch. Derm. Syph. (Berl.)
187, 417 (1948)
40. GRÜN, L. Erg. Mikrobiol. Immun-
forsch. u. exp. Therapie
31, 130 (1958)
41. ----- Staphylococcen in Klinik
und Praxis. Wissenschaftl.
Verlagsgesellsch., Stutt-
gart (1964)
42. HAIS, I.M. und K. MACEK Handbuch der Papierchro-
matographie. G. Fischer,
Jena 1958
43. HAUKENES, G. Norwegian Univ. Press
1962; Acta Path. Mikrob.
Scand 55, 110, 117, 289,
299, 308, 450, 463 (1962)
44. HAUKENES, G., P. OEDING Acta. Path. Mikrob. Scand.
and N. LOSNEGARD 53, 84 (1961)
45. HAXTHAUSEN, H. Arch. Derm. Syph. (Berl.)
170, 378 (1934)
46. ----- Arch. Derm. Syph. (Berl.)
174, 17 (1936)

47. HIBNICK, H.E. and M.S. BERGDOLL Arch. Bioch. Biophys. 85, 70 (1959)
48. HJORTH, N. Berufsdermatosen 12, 87 (1964)
49. HOFFSTADT, R.E. and W. CLARK J. inf. Dis. 62, 70 (1938)
50. HORTON, D. and M.M. WOLFROM Polysaccharides: In Comprehensive Biochemistry. Ed. by M. FLORKIN and E.H. STOTZ, Vol. 5, Carbohydrates, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, London, New York 189 (1963) . .
51. HOUSEWRIGHT, R.D. and R.J. HENRY J. Bact. 53, 241 (1947)
52. JACHERTS, D. Zbl. Bakt. I. Orig. 164, 71 (1955)
53. JENSEN, K. Acta Path. Mikrobio. Scand. 44, 421 (1958)
54. JORDAN, E.O. and W. BURROWS Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 30, 448 (1933)

55. JULIANELLE, L.A. and C.W. WIEGHARD J. exp. Med. 62, 11 (1935a); 31 (1935b)
56. JUNGERMANN, D. Arch. Immun. exp. Ther. 10, 77 (1962)
57. KODAMA, T. and T. KOJIMA Kitasato Arch. exp. Med. 16, 36 (1939); zit. nach ELEK (1959)
58. KOROSSY, S. und M. GOZONY Acta allergol. 13, 286 (1959)
59. KOURILSKY, R., R. RICHOU C.R. Soc. Biol. (Paris) 147, 984 (1953)
60. KRUEGER, A.P. and V.C.NICHOLS J. Bact. 30, 401 (1935)
61. LANCEFIELD, R.C. J.exp.Med. 42, 397 (1925)
62. LANDSTEINER, K. J.exp.Med. 39, 631 (1924)
63. LANDSTEINER, K. and M.W.CHASE J.exp.Med. 66, 337 (1937)
64. ----- J.exp.Med. 69, 764 (1939)
65. LANDSTEINER, K. and J. JAKOBS J.exp.Med. 61, 643 (1935)
66. ----- J.exp.Med. 64, 625, 717 (1936)

67. LETTERER, E. Arch. Klin. exp. Derm.
213, 277 (1961)
68. LOEB, L.J., A. MOYER
and R.G.E. MURRAY Canad. J. res. 28, 212
(1950); zit. nach ELEK
(1959)
69. LÖFKVIST, T. and
J. SJÖQUIST Acta Path. Mikrobiol.
Scand. 56, 295 (1962)
70. ----- Int. Arch. All. 23, 289
(1963)
71. ----- Int. Arch. All. 24, 244
(1964)
72. MALMGREN, H. Bioch. Biophys. Acta
11, 52 (1953)
73. MARCHIONINI, A. und
R. SCHMIDT Klin. Wschr. 18, 461
(1939)
74. MARKS, J. and A.C.T. VAUGHAN J. Path. Bact. 62, 597
(1950)
75. MAYER, R.-L. Arch. Derm. Syph. (Berl.)
156, 331 (1928)

76. MAYER, R.-L Arch. Derm. Syph. (Berl.)
163, 223 (1931)
77. ----- J. Invest. Derm. 10, 389
(1948)
78. ----- Klin. Wschr. 885, (1958)
79. MEYER-ROHN, J. und B. ROHDE Acta allerg. 13, 389 (1959)
80. MEYER-ROHN, J. und Arch. Derm. Syph. (Berl.)
G. SCHRÖDER 196, 305 (1953)
81. MIESCHER, G. Ekzem. Histopathologie,
Morphologie, Nosologie.
In: Hdb. d. Haut- u.
Geschl.Krkh. von J. JADA-
SSON, Erg.Werk herausge-
geben von A. Marchionini,
II/1, 1. Springer, Berl.-
Göttingen-Heidelberg (1962)
82. MIESCHER, G., H. LINCKE Bull. Schweiz. Akadem.
und H. STORCK Wiss. 4, 355 (1948)
83. MITCHELL, P. and J. MOYLE J. Gen. Mikrobiol. 5, 984
(1951b)

84. MÜLLER, E. wird publiziert in Arch.
klin. exp. Derm. (1964)
85. ----- Arch. klin. exp. Derm.
219, 874 (1964)
86. MÜLLER, E., F. SCHRÖPL Arch. klin. exp. Derm.
und H. RÖCKL 218, 298 (1964a)
87. ----- wird publ. Arch. klin.
exp. Derm. (1964b)
88. NILZÉN, A. and K. WIKSTRÖM Acta derm.-venerol.
(Stockholm) 35, 292 (1955b)
89. NITTL, F. et D. BOVET Rev. Immunol. 2, 460 (1936)
90. NITTL, F., D. BOVET et Rev. Immunol. (Paris),
F. DEPIERRE 3, 376 (1937)
91. OEDING, P. Acta Path. Mikrobiol.
Scand. 33, 192 (1953)
92. OSSOWIECKI, H.I. Med. Doswiad. i. Mikro-
R. PAKULA biol. 15, 1 (1963); ref.
Zbl. Bakt. Ref. 190, 118
(1963)

93. PANTON, P.N., and Staphylococcal toxin.
F.C.O. VALENTINE Lancet, I. 506 (1932)
94. PERUTZ, A. Klin. Wschr. 11, 240
(1932)
95. PILLET, J., M. ROUYER Ann. Inst. Pasteur 88,
et B. ORTA 662 (1955)
96. PIRILÄ, V. and E. SILTANEN Dermatologica 110, 144
(1955)
97. POLONOVSKI, J., R. WALD Ann. Inst. Pasteur 103,
et M. PAYSANT-DIAMANT 32 (1962)
98. RAJKA, G. Acta allerg. (Kbh.) 5,
11 (1952)
99. RAJKA, E., S. KOROSSY Das mikrobielle Ekzem.
und M. GOZONY Verl. d. Ung.Akad. d.
Wissenschaft. Budapest
(1962)
100. RAMMELKAMP, D.H. jr., J. exp. Med. 91, 295
M.M. HERZEBRICKS and
J.H. DINGLE (1950)

101. ROBERT, P. Arch. Derm. Syph. (Berl.)
173, 267 (1935)
Arch. Derm. Syph. (Berl.)
175, 530 (1937)
102. RÖCKL, H. Hautarzt 6, 532 (1955);
7, 14, 70, 113, 248, 304,
(1956); Arch. klin. exp.
Derm. 219, 830, 876 (1964)
103. RÖCKL, H. und F. SCHRÖPL Arch. klin. exp. Derm.
219, 862 (1964)
104. ROGERS, H.J. Bioch. J. 42, 633 (1948)
105. ROSTENBERG, A. jr. and J. Allerg. 22, 466 (1951)
A.J. PERKINS
106. ROUNTREE, P.M. Aust. J. exp. Biol. med.
Sci. 25, 359 (1947); zit.
nach ELEK (1959)
107. SABIN, B. and G.L. STAHLY J. Bact. 44, 265 (1942)
108. SAN CLEMENTE, Ch.L. and J. Bact. 86, 606 (1963)
Z. ZOLLI jr.
109. SAZ, A.K., D.L. LOWERY J. Bact. 82, 298 (1962)
and L.J. JACKSON

119. SIDI, E., J. HINCKY et M. HINCKY Revue Francais d'Allergie, 1, (janvier-mars 1964)
120. SIDI, E., M. HINCKY and R. LONGUEVILLE J. Invest. Derm. 30, 225 (1958)
121. SPIER, H.W. Allergie der Haut. In: Dermatologie und Venerologie von GOTTRON und SCHÖNFELD, I/1, 613. G. Thieme, Stuttg. 1961
122. STORCK, H. Dermatologica 96, 177 (1948)
123. ----- Arch. Derm. Syph. (Berl.) 189, 315 (1949a)
124. ----- Arch. Derm. Syph. (Berl.) 191, 430 (1949b)
125. STORCK, H. and M. SCHWARZ Acta allerg. (Kbh.) Suppl. 7, 232 (1960)
126. SULZBERGER, M.B. and R.L. BAER J. invest. Derm. 1, 45 (1938)
127. SULZBERGER, M.B. and R.-L. MAYER Arch. Derm. Syph. (Chicago) 24, 537 (1931)

128. THOMPSON, R. and D. KHORAZO J. Bact. 34, 69 (1937)
129. TRIGUEROS, E.A. Rev. clin. exp. 1, 160
(1940) zit. nach ELEK
(1959)
130. TZANCK, R. These Paris, 1942; zit.
nach E. SIDI, J. HINCKY
et M. HINCKY (1964)
131. UNNA, P.G. Mh. prakt. Derm. 1899 II
106
132. VACZI, L. und I. MIHALYFI Acta mikrobiol. hung. 1,
459 (1954)
133. VERWEY, W.F. J. Bact. 39, 58 (1940)
134. VOSS, J.G. J. invest. Derm. 31, 273
(1958)
135. WEDROFF, W.S. und Arch. Derm. Syph. (Berl.)
A.P. DOLGOFF 171, 641 (1935a)
136. WOODIN, A.M. Bioch. J. 75, 158 (1960)

Zum Schluß möchte ich Herrn Professor Dr. Röckl für die Überlassung des Themas danken.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Privat-Dozent Dr. Schröpl, dessen Rat und Anleitung eine unentbehrliche Hilfe waren.

Lebenslauf

Ich wurde am 29.6.1940 als Sohn des Landwirts Gebhard Sachse und seiner Ehefrau Johanna Sachse in der schlesischen Stadt Schweidnitz geboren. Nach der Flucht wurde ich mit sieben Jahren in Kellinghusen (Schleswig-Holstein) eingeschult. Mit dem Besuch der Oberschule begann ich 1951 in Lindau am Bodensee, trat aber anlässlich einer Umsiedlung kurz darauf in die Oberschule in Ravensburg ein, die ich bis zum Abitur im Jahre 1960 besuchte.

Vom Wintersemester 1960/61 an studierte ich in München Medizin und bestand nach dem zweiten Semester das Vorphysikum, nach dem fünften das Physikum.

Im Juli 1965 heiratete ich die medizinisch-technische Assistentin Gisela Scholich.

Das Staatsexamen bestand ich am 3. August 1966 in München.

